TP ANA3
INSA DE ROUEN
Laboratoire de chimie analytique

ABSORPTION ATOMIQUE : DETERMINATION DE LA TENEUR EN MERCURE ET MAGNESIUM DANS DU THON

Le poisson a toujours été apprécié pour ses qualités culinaires et nutritionnelles et constitue parmi les denrées alimentaires les plus saines de notre alimentation. Cependant, depuis quelques années certaines espèces de poisson de mer, plus spécifiquement le thon, font l'objet d'une attention particulière en raison d'une teneur en mercure dépassant régulièrement la valeur limite de 1,0 mg/kg (Décision européenne 93/951/CE).
Dans le milieu aquatique, les poissons se situant en fin de chaîne alimentaire, comme le thon, l'espadon, le requin et autres grands poissons accumulent le mercure (sous la forme de méthyle mercure) dans leurs tissus pendant plusieurs années et contiennent ainsi des concentrations plus élevées que des espèces plus vulnérables.

Objectifs du travail :

L'objectif de ce travail est de doser le Mercure et le Magnésium dans du thon en boite : thon au naturel et thon à l'huile. Il s'agira tout d'abord de réaliser la mise en forme de l'échantillon en vue d'une analyse par spectrométrie d'absorption atomique. Pour cela, on réalisera tout d'abord, une minéralisation par voie humide.

Objectifs pédagogiques :

- Prise en main de l'appareil de minéralisation sous micro-onde ETHOS Milestone qui réalise le traitement de l'échantillon par voie humide.
- Utilisation d'un spectromètre à absorption atomique Thermo Solaar S2 en mode vapeur froide (grâce au générateur d'hydrures VP100) pour le dosage du mercure et en mode flamme pour le dosage du magnésium.
- Mise en œuvre de deux méthodes d'étalonnage dans chacun des modes (vapeur froide et flamme): étalonnage externe et ajouts dosées et comparaison des résultats obtenus par ces méthodes

Organisation du temps de travail :

- lancer la minéralisation par voie humide simultanément du thon à l'huile et du thon au naturel.
- pendant les 1h de minéralisation, créer les quatre méthodes à l'aide du logiciel du spectrophotomètre et préparer les solutions pour les courbes d'étalonnage externe.
- une fois la minéralisation effectuée, terminer les gammes de calibration en ajouts dosées. Puis passer à l'analyse de toutes les fioles d'abord en vapeur froide (étalonnage externe et ajout dosés) puis en flamme (étalonnage externe et ajouts dosés).

I. Minéralisation sous micro-onde.

Le port des lunettes, de la blouse et des gants en nitrile (gants bleus) est indispensable lors de la préparation de l'échantillon. La manipulation s'effectue sous hotte avec la vitre baissée. Il faut de plus rester à coté du four micro-onde pour vérifier que la minéralisation se passe bien. La prise d'essai et la minéralisation se feront sous le contrôle d'un enseignant ou d'un technicien. Si problème (claquement aigu due à une surpression), prévenez très rapidement l'enseignant ou le technicien et faites évacuer la pièce.

L'appareil ETHOS de la société Milestone permet de réaliser des minéralisations sous micro-onde par voie humide. Il permet donc le chauffage du mélange sous pression avec une mesure in situ de la température. Il est équipé d'une sécurité en pression fixée à 110 bar. Cette technologie permet de réduire les temps de minéralisation d'un facteur 2 à 10 tout en augmentant le niveau de qualité et de sécurité.

La minéralisation des deux échantillons se ferra simultanément.
Prélever 2 g de miettes de thon « essoré » (sans jus ni huile) dans le réacteur en Téflon. Ajouter sous hotte avec précaution, 7 mL d'acide nitrique concentré puis 2 mL d'eau oxygénée (30% vol). Fermé convenablement le réacteur avec la clé dynamométrique. Puis placer le réacteur sur le rotor dans le four micro-onde. Placer convenablement la sonde de température. Lancer ensuite le chauffage grâce à la console de contrôle.
Le four micro-onde effectue une montée en température jusqu'à 150°C en 10 minutes puis une stabilisation à cette température pendant 5 minutes et enfin on laisse refroidir à 30°C en 45 minutes.

Ajouter le digestat sous hotte à une fiole jaugée de 25 mL contenant environ 5 mL d'eau déionisée, laver le réacteur avec un peu d'eau déionisée puis compléter la fiole au trait de jauge. On obtient la solution A.
Préparer une solution B en versant 2 mL de la solution A dans une fiole jaugée de 500 mL, compléter à l'eau HQ.

II. Réglage du spectrophotomètre

Le magnésium sera dosé par spectroscopie d'absorption atomique en mode flamme (air-acétylène) avec le Solaar S2. Le mercure sera dosé par la méthode des hydrures en vapeur froide (VP100 couplé au Solaar S2).
Il faut créer quatre méthodes :

- En mode vapeur froide pour le mercure :
    - Une méthode pour étalonnage externe
    - Une méthode pour les ajouts dosés
- En mode flamme pour le magnésium :
    - Une méthode pour l'étalonnage externe
    - Une méthode pour les ajouts dosés.

Se référer au mode d'emploi disponible près de l'appareil pour la création des méthodes ainsi que pour l'allumage de l'appareil (allumer les lampes à cathode creuse 20 minutes avant les analyses). Ne pas allumer la flamme.

III. Préparation des solutions d'étalonnage

1. Préparation des gammes de calibration pour le magnésium

On dispose de 50 mL d'une solution à 100 ppm de Magnésium. Diluer cette solution en aussi peu d'étapes que possible pour obtenir au moins 100 mL d'une solution à 0,25 ppm de Mg. Ce sera la solution C.

a. étalonnage externe

Réaliser les 5 solutions dans 5 fioles jaugées de 50 mL avec les concentrations de Mg indiquées ci-dessous.

Numéro de la fiole	1	2	3	4	5
C (Mg) (en ppm)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1

b. Ajouts dosés

Réaliser les 5 solutions dans 5 fioles jaugées de 25 mL selon le tableau suivant :

Numéro de la fiole	1	2	3	4	5
Solution C (mL)	0	2	4	6	8
Solution B (mL)	10	10	10	10	10
qsp	25 mL	25 mL	25 mL	25 mL	25 mL

2. Préparation des gammes de calibration pour le mercure

On dispose de 50 mL d'une solution à 100 ppm de Mercure (Hg^{2+}). Diluer cette solution en aussi peu d'étapes que possible pour obtenir au moins 50 mL d'une solution à 25 ppb de Hg. Ce sera la solution D.

a. étalonnage externe

Réaliser les 5 solutions dans 5 fioles jaugées de 50 mL avec les concentrations de Hg indiquées ci-dessous.

Numéro de la fiole	1	2	3	4	5
C (Hg) (en ppb)	1	2	3	4	5

b. Ajouts dosés

Réaliser les 4 solutions dans 4 fioles jaugées de 25 mL selon le tableau suivant :

Numéro de la fiole	1	2	3	4
Solution D (mL)	0	2	4	6
Solution A (mL)	5	5	5	5
qsp	25 mL	25 mL	25 mL	25 mL

I.V. Analyses et Résultats

1. **Analyse en mode vapeur froide dosage du mercure.**

En utilisant le mode d'emploi, passer vos solutions sur le VP100 couplé au spectromètre (demander à l'enseignant ou au technicien de surveiller les opérations).
On utilisera d'abord la méthode étalonnage externe et on prendra comme échantillon la fiole 1 de la gamme en ajout dosé (fiole qui ne comporte pas d'ajout).
Puis on passera comme expliqué dans le manuel la gamme en ajout dosé.

On s'attachera à traiter les résultats rapidement sous Excel (à vous de faire une feuille de calcul). On comparera les résultats obtenus et on justifiera ou non l'utilisation d'une méthode par ajout dosé. On donnera dans chacun des cas la teneur en mercure dans le thon en µg/g.

2. **Analyse en mode flamme : dosage du magnésium.**

Demander au professeur ou au technicien d'enlever la cellule en T !!!!
Allumer la flamme et laisser l'équilibre s'établir pendant quinze minutes.
En utilisant le mode d'emploi, passer vos solutions sur le spectromètre (demander à l'enseignant ou au technicien de surveiller les opérations).
On utilisera d'abord avec la méthode étalonnage externe et on prendra comme échantillon la solution C.
Puis on passera comme expliqué dans le manuel la gamme en ajout dosé.

On s'attachera à traiter les résultats rapidement sous Excel (à vous de faire une feuille de calcul). On comparera les résultats obtenus et on justifiera ou non l'utilisation d'une méthode par ajout dosé. On donnera dans chacun des cas la teneur en magnésium dans le thon en µg/g.